

Bouillon sélénite-cystine

DOMAINE D'UTILISATION

Le bouillon sélénite-cystine est utilisé pour l'enrichissement sélectif des salmonelles dans les produits pharmaceutiques, le lait et les produits laitiers, les autres produits alimentaires, ainsi que dans le domaine de l'eau.

HISTORIQUE

Guth, confirmant les premières observations de Handel et Thodorascu, a employé le sélénite de sodium comme agent sélectif dans un bouillon d'enrichissement pour *Salmonella* Typhi, après avoir mis en évidence la toxicité de cette substance vis-à-vis d'*Escherichia coli*.
Leifson, reprenant les travaux de Guth, a développé la formule d'un bouillon au sélénite pour l'enrichissement sélectif des *Salmonella* Typhi et Paratyphi à partir de prélèvements pathologiques, en montrant que pendant les douze premières heures d'incubation, le nombre de coliformes diminuait tandis que, parallèlement, le nombre de bacilles typhiques augmentait rapidement.
Le bouillon sélénite-cystine constitue une modification de la formule originale de Leifson.
Cette formulation a été proposée par la Food and Drug Administration pour une utilisation spécialement destinée à la détection des *Salmonella* dans les produits alimentaires. La composition est conforme à la Pharmacopée américaine.

PRINCIPES

- La teneur en sélénite permet d'assurer l'inhibition des microorganismes autres que les salmonelles et notamment des coliformes et des entérocoques. Les *Pseudomonas* et les *Proteus* ne sont pas totalement inhibés.
- Le phosphate disodique contribue à assurer le maintien du pH et à réduire la toxicité du sélénite afin d'augmenter la capacité de récupération du milieu.

PREPARATION

- Mettre en suspension 23,0 g de milieu déshydraté (BK009) dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée.
- Porter à ébullition lentement, en agitant jusqu'à dissolution complète.
- Maintenir l'ébullition pendant 2 minutes.
- Ne pas autoclaver.
- Refroidir rapidement.
- Répartir en tubes ou en flacons stériles en remplissant les contenants aux 2/3 de leur capacité maximale.

NOTA :

- Une surchauffe entraîne l'apparition d'un sédiment rouge brique de sélénium précipité qui dénature le milieu. Celui-ci doit alors être détruit.

Biokar Diagnostics – Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B.P. 10245 – F60002 Beauvais Cedex – France
Tél : +33 (0)3 44 14 33 33 – Fax : +33 (0)3 44 14 33 34 – www.biokar-diagnostics.fr

- Afin d'augmenter la durée de conservation du milieu prêt-à-l'emploi, il est recommandé d'utiliser la technique de stérilisation par filtration sur membrane.

MODE D'EMPLOI

- Refroidir le milieu jusqu'à 25°C.
- Transférer 10 mL d'inoculum dans 100 mL de bouillon, à partir d'un milieu de préenrichissement : bouillon nutritif lactosé (BK082) ou eau peptonée tamponnée (BK018, BK131, BM010, BM057).
- Incuber pendant une durée maximale de 24 heures ou pendant 24 et 48 heures à 37°C ou à 43°C, suivant le protocole analytique à respecter.
- Effectuer un isolement sur plusieurs milieux sélectifs.
- A partir des colonies bien isolées, on inoculera une gélose de Kligler (BK034) ou une gélose TSI (BK059), qui serviront de point de départ pour l'identification.

NOTA :

Ne pas dépasser une durée d'incubation de 24 heures en raison de la diminution de l'effet inhibiteur après les 12 premières heures, les salmonelles étant rapidement détruites au delà de cette durée lorsqu'elles se trouvent en présence de puissants compétiteurs comme les *Proteus*.
Par contre, une durée de 48 heures est requise pour l'enrichissement sélectif de *Salmonella* Pullorum.

FORMULE - TYPE

(pouvant être ajustée de façon à obtenir des performances optimales)

Pour 1 litre de milieu :

- Tryptone ....5,0 g
- Lactose ....4,0 g
- Phosphate disodique ....10,0 g
- Hydrogénosélénite de sodium...4,0 g
- L-cystine...10,0 mg

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : 7,0 ± 0,2.

CONTRÔLE QUALITE

- Milieu déshydraté : poudre blanc crème, fluide et homogène.
- Milieu préparé : solution ambre clair à rosé, pouvant présenter un très léger précipité.
- Réponse culturale typique après incubation 24 heures à 37°C, puis subculture sur gélose XLD :

Microorganismes		Croissance sur gélose XLD
Salmonella Typhimurium + *Escherichia coli* + *Pseudomonas aeruginosa*	ATCC® 14028 ATCC 25922 ATCC 27853	≥ 10 colonies caractéristiques, rouges à centre noir
Salmonella Enteritidis + *Escherichia coli* + *Pseudomonas aeruginosa*	CIP 82.97 ATCC 25922 ATCC 27853	≥ 10 colonies caractéristiques, rouges à centre noir
Enterococcus faecalis *Escherichia coli*	ATCC 29212 ATCC 25922	≤ 10^2 colonies ≤ 10^2 colonies

Biokar Diagnostics – Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B.P. 10245 – F60002 Beauvais Cedex – France
Tél : + 33 (0)3 44 14 33 33 – Fax : + 33 (0)3 44 14 33 34 – www.biokar-diagnostics.fr

STOCKAGE / CONSERVATION

Milieu déshydraté : 2-20°C.
- La date de péremption est mentionnée sur l'étiquette.
- Milieu préparé en tubes ou en flacons : 8 jours à 2-8°C, à l'obscurité et après vérification de la stabilité et de l'efficacité bactériologique (à titre indicatif).

PRESENTATION

	Code
Milieu déshydraté :	
- Flacon de 500 g	BK009HA

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

LEIFSON, E.. 1936. New selenite enrichment media for the isolation of typhoid and paratyphoid (*Salmonella*) bacilli. American Journal of Hygiene, **24** : 423-432.

NF V 59-104. Octobre 1982. Gélatine alimentaire. Recherche des *Salmonella*.

ISO 6785 / IDF 93. Mai 2001. Lait et produits laitiers. Recherche de *Salmonella* spp.

XP CEN ISO/TS 11133-2 (V 08-104-2). Janvier 2004. Microbiologie des aliments. Guide pour la préparation et la production des milieux de culture. Partie 2 : Guide général pour les essais de performance des milieux de culture.

FD/CEN/TR 15215-2 (X 33-038-2). Avril 2006. Caractérisation des boues. Détection et dénombrement de *Salmonella* spp. dans les boues, les sols, les amendements du sol, les supports de culture et biodéchets. Partie 2 : Méthode par enrichissement en milieu liquide sélénite-cystine puis en milieu de Rapport-Vassiliadis pour la détermination semi-quantitative par la méthode du Nombre le Plus Probable (NPP).

United States Pharmacopeia 30. 2007. Microbiological Tests / Microbial Limit Tests. Buffer Solution and Media. 84-86.

NF U 47-101. Novembre 2007. Méthodes d'analyse en santé animale. Isolement et identification de tout sérovar ou de sérovar(s) spécifié(s) de salmonelles chez les oiseaux.

NF U 47-102. Janvier 2008. Méthodes d'analyse en santé animale. Isolement et identification de tout sérovar ou de sérovar(s) spécifié(s) de salmonelles chez les mammifères.

NF EN ISO 6785 (V 04-031). Avril 2008. Lait et produits laitiers. Recherche de *Salmonella* spp.

NF ISO 19250 (T 90-435). Octobre 2010. Qualité de l'eau. Recherche de *Salmonella* spp.

Les mentions portées sur l'étiquette sont prédominantes sur les formules ou les instructions décrites dans ce document.
Les informations et les spécifications contenues dans cette fiche technique ont été établies à la date du 2010-10-12.
Elles sont susceptibles d'être modifiées à tout moment, sans préavis.
Code document : BK009/F/2003-04 : 10.

Biokar Diagnostics – Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B.P. 10245 – F60002 Beauvais Cedex – France
Tél : + 33 (0)3 44 14 33 33 – Fax : + 33 (0)3 44 14 33 34 – www.biokar-diagnostics.fr